Aus der II. Medizinischen Klinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. *A. Schittenhelm*

Über den Purinstoffwechsel und seine Veränderungen nach Blockierung des RES mit Tusche

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

August Amann
aus Konstanz

München 1938

Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz A.G., Würzburg

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. *A. Schittenhelm*

Tag der mündlichen Prüfung: 11. August 1937

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderdruck aus
„Zeitschrift für die gesamte experimentelle Medizin", 107. Band, 3. Heft
(Verlag von Julius Springer, Berlin W9)

Die Veränderungen des Stoffwechsels nach Blockade des RES sind schon des öfteren Gegenstand eingehender Untersuchungen gewesen. Eindeutige Ergebnisse über eine Beteiligung desselben an den oxydativen Umwandlungen des intermediären Stoffwechsels konnten bis jetzt nicht aufgezeigt werden. Da eine klare Funktionsprüfung des RES noch nicht aufgefunden werden konnte, kann nach Injektion von Tusche in keinem Fall entschieden werden, in wie weit es in seiner Funktion blockiert ist. Vollständige Blockaden des gesamten Systems sind mit dem Leben nicht vereinbart. Leichtere Schädigungen führen zu starken kompensatorischen Hypertrophien, die die Beurteilung der Versuchsergebnisse fast unmöglich machen, da ein Nachweis über die Funktionstüchtigkeit des RES fehlt. Bei der innigen Verknüpfung von Parenchym und RES können isolierte Schädigungen des letzteren nicht erwartet werden. Deshalb ist bei der Beurteilung der Ergebnisse nach Blockaden große Zurückhaltung erforderlich. Veränderungen des Stoffwechsels können stets auf einer funktionellen Schädigung des Parenchyms beruhen, ohne daß dieselbe histologisch nachweisbar wäre.

Diese Tatsachen führten wir uns bei Beginn unserer Arbeit vor Augen, um ja nicht in den Fehler einer Voreingenommenheit zu verfallen. Am eingehendsten untersucht wurden die Veränderungen des *Purinstoffwechsels nach Blockade des RES. Klein* und *Levinson* hatten nachgewiesen, daß Injektion von Tusche zu einer Erhöhung des Blutharnsäurespiegels führt. Belastungen mit Harnsäure vor und nach Blokkade zeigten, daß die Erhöhung des Harnsäurespiegels im Blut und ebenso dessen Erniedrigung in gleicher Weise verlaufen. Die betreffenden Untersucher lehnen deshalb eine Hemmung der Urikolyse als Folge der Schädigung des RES ab. Die Erhöhung der Blutharnsäure stellt nach ihnen die Folge eines auf das RES gesetzten Reizes dar. Bei der Untersuchung der *Ausscheidungsverhältnisse beim Hund nach fortlaufender Injektion steigender Menge Tusche stellte dagegen Chrometzka eine Erhöhung der*

Harnsäureausscheidung mit gleichzeitiger Erniedrigung der Allantoinausscheidung fest. Dieses Ergebnis wurde als Beweis für das Vorliegen einer Hemmung der Urikolyse nach Blockade des RES angesehen. Nach diesen Untersuchungen sollte der Abbau der Harnsäure eine Funktion des RES darstellen. Diese Untersuchungen wurden bei einem Tier über lange Zeit fortgesetzt. Kurz vor dem Verenden des Tieres wurde fast kein Allantoin mehr ausgeschieden, dafür aber soviel Harnsäure, daß sie im Urin kristallinisch ausfiel.

Die histologische Untersuchung der Organe ergaben das ausgeprägte Bild einer Fettcirrhose der Leber, Cirrhosen der Milz und Nebennieren, massenhaft Harnsäurekonkremente in den Nierenbecken, degenerative Glomerulusveränderungen, trübe Schwellung der Kanälchenepithelien und Harnsäurenadeln in dem Gelenkpunktat des linken Schultergelenks.

Die Hemmung der Urikolyse nach Blockade des RES wurde weiterhin bewiesen durch Versuche an der supravital durchströmten Leber.

Die endliche Klärung der Frage ist in vieler Hinsicht von größter Wichtigkeit; denn es ist heute der alte Streit noch nicht entschieden, ob beim Menschen die Harnsäure in jedem Fall ein letztes Abbauprodukt darstellt oder nicht unter Umständen einem weiteren Abbau und Wiederverwertung der kleineren Bruchstücke unterliegt.

Für letzteren Fall spricht doch zweifellos das Vorhandensein der Urikolyse überhaupt, die ja sonst ihren Sinn und Zweck im menschlichen Organismus verloren hätte, weiterhin die Tatsache, daß z. B. bei Diabetes insipidus die Allantoinausscheidungswerte beim Menschen stark in die Höhe gehen, was man bei anderen Hypophysenerkrankungen ebenfalls beobachten kann. Ja sogar bei einigen Fällen von Thyreotoxikose und Herzerkrankungen kann man eine leichte Steigerung der Allantoinausscheidung finden, ohne daß hierfür Ausscheidungsstörungen verantwortlich gemacht werden können. Dem teleologischen Denken, das doch in den meisten Fällen für den natürlichen Ablauf im Organismus gilt, käme eine mögliche Weiterverwertung der Harnsäure jedenfalls sehr entgegen, da das Harnsäuremolekül schon kalorienmäßig eine nicht unbrauchbare Schlacke darstellt.

Die *Chrometzkaschen Versuche* sind zu fundamental, um sie kurzerhand zu übergehen. Wenn sie richtig waren, ist ihr weiterer Ausbau geeignet, restlose Klärung in den Ablauf des Purinstoffwechsels zu bringen. Die Grundlagen müßten auf jeden Fall gesichert sein. Deshalb unternahmen wir eine *Nachprüfung seiner Versuche.*

Zunächst *belasteten wir einen mittelgroßen Hund mit 1 g Thymonucleinsäure.* Die nebenstehende Tabelle zeigt die Ergebnisse.

Harnsäure im Blut	Ohne Blockade mg-%	Vor der Blockade 1,2 mg-%, mit Blockade mg-%
Vor Injektion . . .	1,32	2,02
30 Min.	1,85	2,67
60 Min.	2,89	3,89
90 Min.	3,02	3,90
120 Min.	2,11	4,15
180 Min.	1,93	2,01

Nach 90 Min. erreichte die Harnsäure im Blut ohne Blockade den höchsten Wert. Nach einigen Tagen wurde mit 5 ccm Tusche blockiert. Vor der Injektion war der Blutharnsäurewert 1,2 mg-%, unmittelbar nach derselben 2,02 mg-%. Nach *Leipert* ist die Erhöhung des Harnsäurespiegels nach Injektion von Tusche der Ausdruck eines erhöhten Zellzerfalls. Genau so kann man natürlich eine Hemmung der Urikolyse annehmen. Zum mindesten spricht nicht dagegen, daß nach Blockade der Höchstwert erst nach 120 Min. erreicht wurde, also ein *verzögerter Ablauf der Umwandlung in Allantoin* vorhanden ist. Das ist immerhin ein Unterschied, wenn auch geringen Ausmaßes, gegenüber der normalen Belastungskurve ohne Blockade. Unsere Versuche laufen also nicht ganz parallel denen von *Klein* und *Levinson,* die keinen Unterschied vor und nach Blockade des RES fanden. Wir glauben nicht, daß wir damit zuviel aus unseren Kurven herauslesen.

Nach diesen einfachen Injektionsversuchen wurde der Verlauf der Belastungskurve beim *Pfortader angiostomierten Tier* festgestellt. Diese Versuche sind in Parallele zu setzen mit den Versuchen *Chrometzkas* an der überlebenden Leber. Dabei stellte derselbe fest, daß nach Injektion von Tusche die überlebende Leber nur noch in ganz geringem Umfang imstande ist, die in die Pfortader injizierte Harnsäure zum Allantoin abzubauen im Gegensatz zu entsprechenden Versuchen mit normalen Lebern, bei denen die gesamte injizierte Harnsäuremenge zu Allantoin abgebaut wurde.

Die *Angiostomie* der Pfortader wurde nach einer Methode durchgeführt, die an Kaninchen ausgearbeitet worden war und nach einigen Verbesserungen auch am Hund angewendet werden konnte. Die Operation wurde in der hiesigen chirurgischen Klinik von den Herren Dr. *Steigerwaldt* und Dr. *Reiser* ausgeführt. Wir möchten ihnen auch an dieser Stelle unseren Dank dafür aussprechen. Versuchstier war ein mittelgroßer, langhaariger Hund. Die Blutharnsäurekurven wurden 8 Tage nach der Operation ausgeführt.

Wir hatten die Absicht, in genauer Einhaltung der Versuchsbedingungen von *Chrometzka* 10 ccm Tusche intraportal zu injizieren, als das Tier schon *nach Injektion von 3 ccm* plötzlich wie tot zusammenbrach, spontan einen dünnflüssigen Spritzstuhl von sich gab und sich kaum stillbar gallig erbrach. Jeder Versuch die Tuscheinjektion weiterzuführen erschien gefährlich, da er unseres Erachtens mit dem Leben des Tieres nicht mehr vereinbar war. Das periphere Blut wurde direkt nach der Injektion auf Tusche untersucht. Wir konnten eine solche nicht feststellen, so daß wir annehmen mußten, daß die gesamte injizierte Menge in der Leber gespeichert war. Nach einer halben Stunde hatte sich das Tier wieder soweit erholt, daß mit der intraportalen Injektion von Thymusnucleinsäure begonnen werden konnte. Die Kurven 1 und 2 bringen die Ergebnisse.

Wir bringen diese Kurven, obwohl sie vor und nach Belastung fast keine Unterschiede aufweisen. Freilich muß man bedenken, daß es uns

nicht gelang, mehr als 3 ccm Tusche zu injizieren, während *Chrometzka* beim überlebenden Organ 10 ccm anwandte. Man kann annehmen, daß uns nur eine geringe Teilblokade gelungen ist, so daß der normale Stoffwechsel vom unblockierten Anteil noch leicht übernommen werden konnte. Wenn man bei *Chrometzka* auch einwenden kann, daß es sich um ein absterbendes Organ handelt, bei dem allmählich die gesamten Funktionen ausscheiden, so ist doch sicher, daß gerade die abbauenden Fermente am längsten, oft über den Tod hinaus, erhalten bleiben. Urikase ist aber zu diesen zu rechnen. Außerdem bleibt ja das Thymusnucleinsäure spaltende Ferment bis zum Schluß erhalten, was ja aus der Harnsäurebildung klar ersichtlich ist.

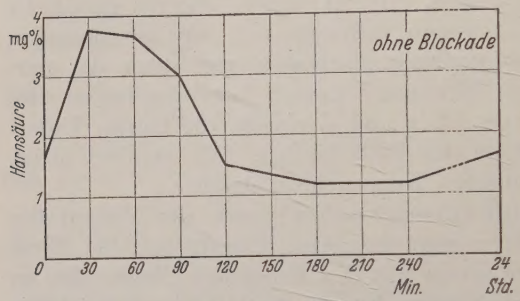

Abb. 1. Vor Blockade.

Bei den beiden nächsten Versuchen handelt es sich um 2 Tiere *ohne Angiostomie,* bei denen die *Ausscheidungsverhältnisse* genauestens verfolgt wurden. Die Versuchsanordnung war, wie sie von *Chrometzka* angegeben wurde.

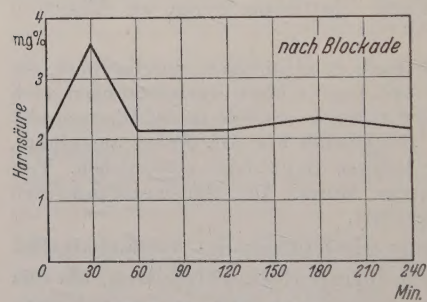

Abb. 2. Nach Blockade.

Als Versuchstiere verwandten wir verschiedene Hunde, wobei wir darauf achteten, daß wir sowohl große wie kleine, ältere wie jüngere, als auch Vertreter der verschiedensten Rassen bekamen. In den beiden Versuchen bekamen die Tiere eine Ernährung, die getrocknetes Fleischpulver enthielt, wie es von *Schittenhelm* bei seinen Untersuchungen über den Purinstoffwechsel gegeben wurde. Die übrigen Tiere bei den späteren Versuchen wurden vollkommen fleischfrei ernährt, wie es von *Chrometzka* angegeben wurde. In allen Fällen wurden die Versuche erst begonnen, nachdem die Tiere sich in 1—2 Monaten an die Kost gewöhnt hatten und sich im Stoffwechselgleichgewicht befanden. Die Unterbringung derselben fand in Stoffwechselkäfigen statt. Der Urin wurde in Toluol-Thymol aufgefangen und teils eintägig, teils zweitägig untersucht. Die Abgrenzung erfolgte durch Kathetherisieren. Untersucht wurde der Gesamtstickstoff nach *Kjehldal,* Allantoin nach *Wichowski,* Harnsäure und Purinbasen nach *Krüger-Schmid* und X-Körper nach *Chrometzka.* In einem Falle wurde auch die Harnstoffausscheidung nach der Xanthydrolmethode untersucht. Zur Blockade verwandten wir Pelikaninjektionstusche.

Diese beiden Versuche könnte man wohl im Sinne einer *allgemeinen Stoffwechselsteigerung* auslegen. Es steigen nach Tuscheinjektion alle Werte des Purinstoffwechsels mehr oder weniger stark an. Eine Weiterführung

der Versuche bis zu einer Umkehr der Allantoin- und Harnsäurewerte war nicht möglich, da es bei den Tieren nach weiterer Tuscheinjektion zu starkem Erbrechen und Durchfällen kam und mit einem Eingehen derselben gerechnet werden mußte.

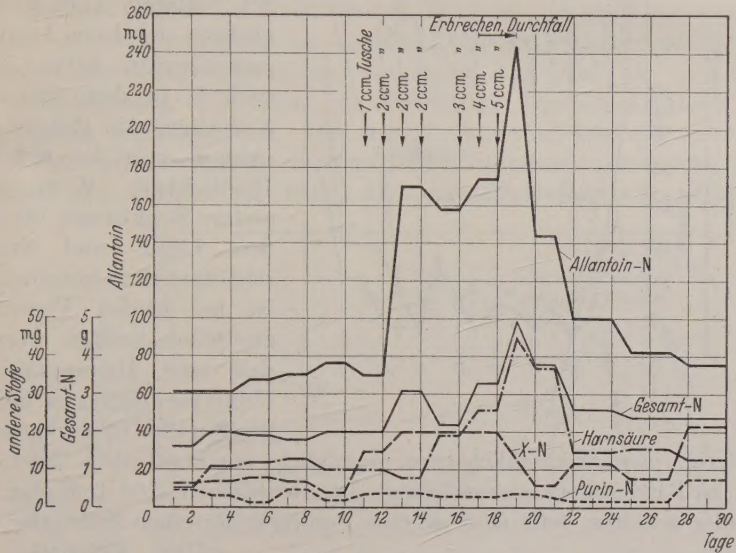

Abb. 3. Versuchstier war ein mittelgroßer Hund. Kost nach dem Schema von *Schittenhelm*. Der Versuch wurde über 30 Tage fortgeführt.

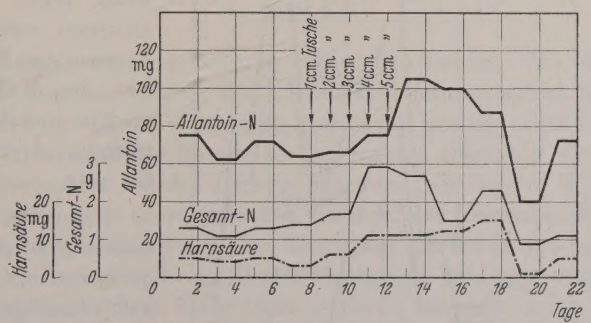

Abb. 4.

Wesentlich anders waren schon die Ergebnisse beim 5. Tier. Dieses war ein Dackel, der vollkommen purinfrei ernährt wurde. Im Anschluß an die Tuscheperiode wurden einige Salvarsaninjektionen vorgenommen. Die Ergebnisse der Tuscheperiode decken sich im allgemeinen mit den vorigen. Nach Injektion von Salvarsan kommt es aber zu einer ganz gewaltigen *Steigerung der Harnsäureausscheidung*. Wenn auch die Stickstoff- und Allantoinwerte ebenfalls in die Höhe gehen, so erreichen

doch die Harnsäurewerte eine Höhe, die nicht mehr mit Stoffwechselsteigerung allein erklärt werden kann. Ohne Zwang kann man hier weit besser eine b*eginnende Hemmung der Urikolyse* annehmen, die mit größter Wahrscheinlichkeit bei weiterem Verfolg noch größere sichtbare Ausmaße angenommen hätte. Versuch 6, zu dem wir nach 3 Wochen das gleiche Tier nahmen, zeigt dies mit aller Deutlichkeit. Wenn auch andere Reaktionen für größere Leber- und Nierenschädigungen sprechen, so ist bei beiden Versuchen zweifellos gezeigt worden, daß eine Hemmung der Urikolyse möglich ist. Selbstverständlich ist es ungeheuer schwierig, ja wahrscheinlich ganz unmöglich, ein Ferment in der Leber bzw. im RES isoliert auszuschalten. Die Reaktionen sind teils eng aneinander gekettet, teils sind sie eine Funktion derselben Zelle oder derselben Zellpartie. Es hat zur Klärung unserer Frage nicht allzu viel zu sagen, wenn im Urin Spuren von Eiweiß waren, der Kältealdehyd positiv und die Takatareaktion dreifach positiv war.

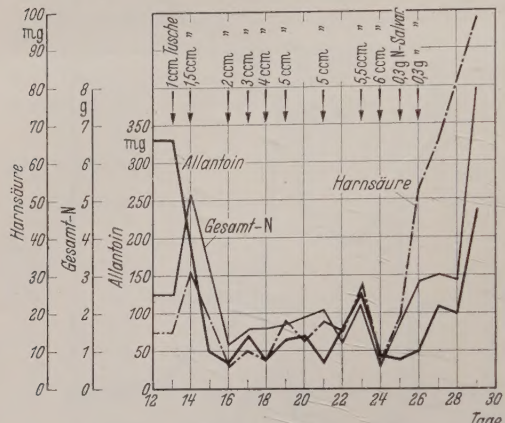

Abb. 5.

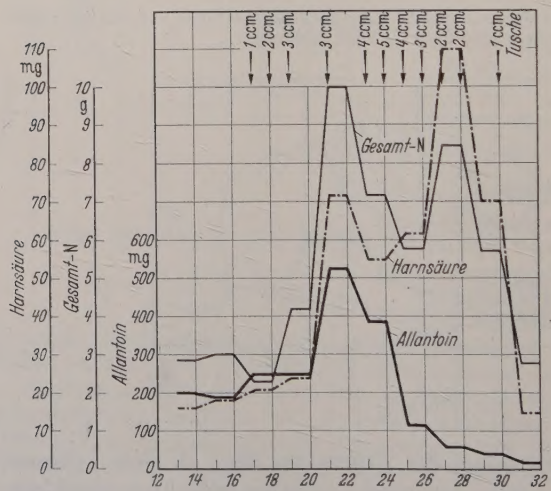

Abb. 6.

Beim 6. Versuch haben sich also die *Ergebnisse von Chrometzka voll bestätigen* lassen. Die Harnsäureausscheidung steigt gewaltig an, während das Allantoin fast völlig verschwindet.

Wir versuchten noch bei weiteren fünf verschiedenen Tieren diese Ergebnisse zu reproduzieren. Die Resultate waren jedoch ähnliche wie bei Kurve 3 und 4, weswegen wir von einer Wiedergabe absehen wollen.

Nach den eindeutigen Ergebnissen von Versuch 6, versuchten wir nochmal an einem *angiostomierten* Tier einen einwandfreien Beweis zu erhalten. Leider war uns auch in diesem Fall nur eine Injektion von 3 ccm Tusche möglich, wobei es schon zu Erbrechen des Tieres kam. Eine Blockade konnte bei dieser kleinen Tuschemenge gar nicht erwartet werden, da noch genügend unversehrtes Gewebe vikariierend für den normalen Purinstoffwechselablauf vorhanden war (Abb. 7).

Schlußfolgerung: Wir haben mit Absicht die Ergebnisse unserer Versuche genau wiedergegeben. Von den 12 Versuchen war nur einer, der restlos den von *Chrometzka* veröffentlichten Resultaten entsprach, wobei geradezu eine *Umkehr im Ausscheidungsverhältnis Harnsäure: Allantoin*

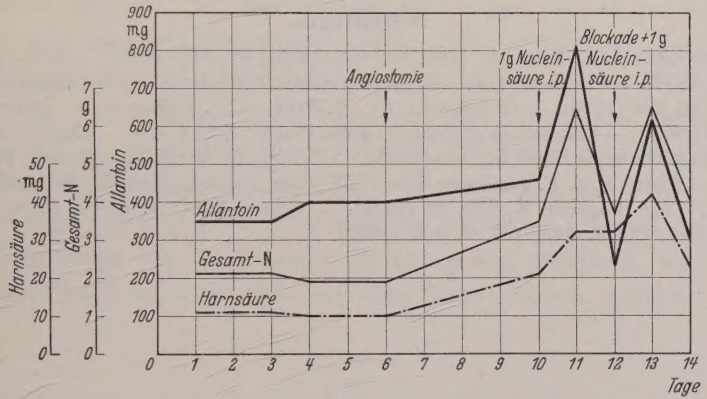

Abb. 7.

eintrat, ja sogar letzteres beinahe völlig verschwand. Wir sind uns des Einwandes, den ein Gegner der Urikolysehemmung sofort bringt, wohl bewußt: Wenn von 12 Versuchen nur einer positiv ausfiel, also nicht einmal 10%, so muß der Beweis als ergebnislos abgelehnt werden. Diese Schlußfolgerung ist falsch. Richtig ist, wenn wir sagen: *Wir haben von den 12 Hunden einen herausgefunden, bei dem eine Hemmung der Urikolyse ohne allen Zweifel eingetreten ist.* Denn das dürfte ja jedem der schon Purinstoffwechselversuche an Hunden gemacht hat, klar sein, daß nicht jeder Hund in gleichem Maße dazu geeignet ist, geschweige denn jedes Säugetier. Ähnliche Unterschiede sehen wir ja auch bei anderen Versuchen. Wir erwähnen nur die neuesten Angaben *Fairleys*, der findet, daß z. B. nur das Plasma von Menschen und Affen einen Eiweißstoff enthält, der sich mit Hämatin zu Methämalbumin binden kann, während dieser allen anderen Säugern fehlt. Tatsache ist jedenfalls, daß der *Chrometzka*sche *Tuscheeffekt erzielt werden konnte* und daß dementsprechend die Schlußfolgerungen desselben nicht abzulehnen sind. *Unsere Ergebnisse sind den seinen an die Seite zu stellen.*

Zusammenfassung.

Bei Purinstoffwechseluntersuchungen wurde unter 12 verschiedenen Hunden einer herausgefunden, bei dem sich eine einwandfreie Urikolysehemmung, wie sie von *Chrometzka* beschrieben wurde, nachweisen ließ. Während bei Belastung mit Thymusnukleinsäure nach Blockade das zu Harnsäure abbauende Ferment noch vollständig erhalten blieb, konnte die Urikase, die die Harnsäure weiterspaltet, nahezu ganz ausgeschaltet werden, so daß eine Umkehr des Ausscheidungsverhältnisses Harnsäure: Allantoin fast bis zum völligen Verschwinden des letzteren eintrat.

Schrifttum.

Chrometzka, Fr.: Z. exper. Med. **86**, 483 (1933); **97**, 645 (1936). — Klin. Wschr. **1936 I**, 1877. — *Chrometzka, Fr., R. Dreyer* u. *K. Dümlein:* Naunyn-Schmiedebergs Arch. **183**, 286 (1936). — *Chrometzka, Fr., E. Finke* u. *H. Uffenorde:* Z. exper. Med. **97**, 653 (1936). — *Chrometzka* u. *Gottlebe:* Klin. Wschr. **1935 I**, 457. — *Chrometzka, Fr.* u. *H. Kühl:* Z. exper. Med. **95**, 140 (1935). — *Fairley, N. H.:* Nature (Lond.) **1938 II**, 1156. — *Klein, R.* u. *F. Levinson:* Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **29**, 885 (1932). — *Leipert, Th.:* Biochem. Z. **270**, 93 (1934). — *Schittenhelm, A.* u. *Fr. Chrometzka:* Z. physiol. Chem. **162**, 188 u. 203 (1927).

Lebenslauf.

Am 2. Juli 1912 wurde ich als Sohn des Werkmeisters Berthold Amann und seiner Ehefrau Else, geb. Jäckle, in Kreuzlingen in der Schweiz geboren. Bei Beginn des Weltkrieges zogen meine Eltern nach Konstanz, wo ich in den Jahren 1920 bis 1922 die Volksschule und anschließend das Humanistische Gymnasium bis zur Reifeprüfung besuchte. Im Frühjahr 1931 bezog ich die Universität Freiburg als Angehöriger der medizinischen Fakultät. Im vierten Semester studierte ich an der Deutschen Universität in Prag. Am Ende des fünften Semesters bestand ich in Freiburg das Physikum. Meinen klinischen Studien oblag ich in Freiburg, Hamburg und München, wo ich am 30. Juni 1937 mein Studium mit dem Staatsexamen beendete.

Die Arbeit wurde im Laboratorium der II. Medizinischen Klinik in München unter Anleitung von Herrn Dr.-Ing. und Dr. med. habil. *K. Dirr* angefertigt. Es ist mir eine angenehme Pflicht, ihm auch an dieser Stelle für seine mir jederzeit zur Verfügung gestellten Ratschläge meinen herzlichsten Dank auszudrücken.